

VKORC1 和 CYP2C9 基因多态性对 ICU 患者华法林抗凝治疗的指导价值

闫斌¹, 张梅², 赵贵锋¹

【摘要】 目的 探讨重症监护室(ICU)患者中,维生素K环氧化物还原酶复合体亚单位1(VKORC1)和细胞色素氧化酶P450 2C9(CYP2C9)基因多态性检测对华法林抗凝治疗的指导价值。方法 回顾性分析2019-06至2023-06火箭军特色医学中心ICU收治的合并抗凝指征(心房颤动、深静脉血栓、肺栓塞)患者90例。研究组(30例)为进行基因检测并根据检测结果指导华法林用药的患者;对照组(60例)为未进行基因检测执行临床常规华法林用药策略的患者,对两组进行为期6个月的随访。比较两组一般临床资料信息、研究组基因型分布情况、国际标准化比值(INR)达标时间、治疗窗内的时间比例(TTR)、华法林起始及维持剂量、出血事件发生率及INR \geq 4.0事件发生率。结果 研究组INR达标时间(9.56 \pm 1.68)d,短于对照组的(11.12 \pm 2.03)d;研究组TTR为(72.56 \pm 6.90)%,高于对照组的(64.45 \pm 7.82)%,差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组华法林起始和维持剂量分别为(2.91 \pm 0.73)mg/d、(3.17 \pm 0.81)mg/d,与对照组相比差异均无统计学意义。研究组中小出血事件发生6例(20.00%),低于对照组的27例(45.00%),差异有统计学意义($P<0.05$),两组大出血事件发生率差异无统计学意义。研究组INR \geq 4.0发生率为16.67%,低于对照组的40.00%,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ICU合并抗凝指征患者进行VKORC1和CYP2C9基因多态性检测指导华法林用药,有利于增强抗凝疗效、减少相关不良反应,进而提高用药安全性。

【关键词】 重症监护室;华法林;基因多态性;CYP2C9;VKORC1;抗凝治疗

【中国图书分类号】 R973

Guiding value of VKORC1 and CYP2C9 gene polymorphisms on anticoagulation treatment of warfarin in ICU patients

YAN Bin¹, ZHANG Mei², and ZHAO Guifeng¹. 1. Department of Intensive Care Unit, 2. Department of Gynecology and Obstetrics, Characteristics Medical Center of PLA Rocket Force, Beijing 100088, China

【Abstract】 Objective To investigate the guiding value of vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) and cytochrome oxidase P450 2C9 (CYP2C9) gene polymorphism detection on anticoagulation therapy of warfarin in intensive care unit (ICU) patients. **Methods** Ninety patients with indication of anticoagulation (atrial fibrillation, deep vein thrombosis and pulmonary embolism) admitted to ICU of Characteristics Medical Center of PLA Rocket Force from June 2019 to June 2023 were retrospectively analyzed. The study group (30 cases) underwent genetic testing and were instructed to use warfarin based on the test results, while the control group (60 cases) implemented the conventional clinical warfarin medication strategy without genetic testing. Both groups were followed up for 6 months. The general clinical data, genotype distribution of the study group, INR attainment time, time in treatment range TTR, warfarin starting dose, maintenance dose, incidence of bleeding events and incidence of INR \geq 4.0 events were compared between the two groups. **Results** The time to achieve INR in the study group was (9.56 \pm 1.68) d, which was significantly shorter than that in the control group (11.12 \pm 2.03) d, $P<0.05$. The TTR in the study group was (72.56 \pm 6.90)%, which was higher than that in the control group (64.45 \pm 7.82)%, $P<0.05$. The starting and maintenance doses of warfarin in the study group were (2.91 \pm 0.73) mg/d and (3.17 \pm 0.81) mg/d, respectively, which were not statistically different from those in the control group ($P>0.05$). There were six cases (20.00%) of small bleeding events in the study group, which was significantly lower than that in the control group (twenty-seven cases, 45.00%, $P<0.05$). In contrast, there was no significant difference in the incidence of major bleeding events between the two groups ($P>0.05$). The incidence of INR \geq 4.0 in the study group was 16.67%, significantly lower than that in the control group (40.00%, $P<0.05$). **Conclusions** Detection of VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms in ICU patients with indication of anticoagulation is beneficial to enhance anticoagulation efficacy, reduce related adverse reactions, and improve drug safety.

【Key words】 intensive care unit; warfarin; gene polymorphism; CYP2C9; VKORC1; anticoagulation therapy

作者简介:闫斌,硕士,主治医师。

作者单位:100088 北京,火箭军特色医学中心:1. 重症医学科,

2. 妇产科

通讯作者:张梅, E-mail: zhangmei404528@163.com

心房颤动是重症监护室(intensive care unit, ICU)最常见的心律失常之一,占比 52%^[1],与高龄、高血压、冠心病及心功能不全等相关,房颤时心房收缩功能丧失,血液淤滞于心房内形成血栓。静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE)是深静脉血栓形成及肺血栓栓塞症的统称,这两者的发病机制互相关联,可作为同一疾病在不同部位和不同阶段的两种表现形式。如果不重视房颤及 VTE,血栓一旦脱落,重要脏器就会有极高的血栓栓塞风险。华法林是预防和治疗血栓栓塞事件最常用的处方抗凝剂^[2],但可能会导致以出血为主要形式的各种并发症。大多数个体间华法林药物动力学或药效学的差异性可由其代谢酶的相关性质解释,其中影响抗凝效果最主要的代谢因素是维生素 K 环氧化物还原酶复合体亚单位 1(vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, VKORC1)和细胞色素氧化酶 P450 2C9(cytochrome P450 2C9, CYP2C9)^[3,4]。近年来,国内外已存在通过检测分析二者基因多态性来指导华法林用药剂量的相关研究,并且构建出较为成熟的剂量模型算法^[5-8]。然而,重症患者常合并多脏器功能衰竭,药物在吸收、分布、代谢及排泄方面会发生变化,基因检测是否能够对 ICU 合并抗凝指征的患者具有指导意义,目前尚不清楚。本研究分析 ICU 收治的合并抗凝指征且应用华法林抗凝患者的基因检测结果和相关临床指标,旨在探索基因多态性检测对华法林用药的指导价值,为华法林的有效合理化临床应用提供参考。

1 对象与方法

1.1 对象 回顾性选取 2019-06 至 2023-06 我院 ICU 收治的合并抗凝指征(心房颤动、深静脉血栓、肺栓塞)且应用华法林(齐鲁制药有限公司 国药准字 H37021314)抗凝患者 90 例,其中 30 例进行了 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性检测。纳入标准:(1)需接受器官功能监护及支持而入住 ICU 的成年患者(年龄 ≥ 18 周岁);(2)依据超声、心电图、CTA、造影等手段,明确诊断为 VTE 或房颤^[9];(3)临床及随访资料较全面;无抗凝药物过敏史;无合并严重肝肾疾病、精神意识障碍、恶性肿瘤、血液病、凝血功能障碍等问题。排除标准:临床评估存在较高的出血风险;近期正在服用会对华法林药效产生影响的其他药物^[10]。

全面收集所纳入 90 例患者的临床资料,除个人信息外主要包含相关病史、超声影像、出血情况、国

际标准化比值(international normalized ratio, INR)监测值、30 例患者的检测基因型等。根据是否曾经进行基因检测分组,30 例进行了基因检测并根据检测结果指导华法林用药的患者为研究组,其余 60 例未进行基因检测的患者为对照组,执行临床常规华法林用药策略。

所有患者通过电子病历、电话、短信、微信、问卷等进行追踪随访,询问本人或家属在其执行对应华法林用药策略后 6 个月内的新发血栓、小出血、大出血、死亡事件。根据出血学术研究会(BARC)关于出血标准的统一定义^[11],将 3(a/b/c)型、4 型 CABG 相关出血、5(a/b)型出血划归为大出血事件,其余类型为小出血事件。本研究经过医院伦理委员会审核批准(伦理批号:KY201812)。

1.2 方法

1.2.1 基因检测 所有患者在华法林用药前均接受血常规、肝肾功能等常规筛查,采集清晨空腹外周静脉血 3~5 ml 抗凝保存,室温保存不超过 7 d, 1~8 ℃ 保存不超过 30 d。采用血液基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司),按照其操作步骤、说明要求和注意事项对 DNA 进行提取。随后将提取所得模板进行 PCR 扩增,最后采用人 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性检测试剂盒(苏州旷远生物分子技术有限公司)进行检测,以得到研究组基因型分布结果,完整检测流程约 6 h,不延误治疗。

1.2.2 指导用药 研究组中各基因型患者初始用药剂量的确定,是结合基因多态性检测结果,依据我国《药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)》^[6]中所给出的“基于我国人群的华法林用药剂量计算公式”计算得到。对照组患者华法林用药的初始剂量,依据《华法林抗凝治疗的中国专家共识》^[9]建议,结合临床经验,确定为 2.5~3 mg/d。所有患者治疗开始的前 3 d 根据上述初始给药方案各自用药,第 4 天起检查 INR 值,并依据该数值调整用药剂量。在 INR 值达到目标范围(2~3)前,每 2 d 监测和调整一次剂量,直至 INR 稳定达标。

1.2.3 观察指标 比较分析两组患者:(1)一般临床资料信息,包括超声、心电图、CTA、造影等;(2)研究组 30 例基因型分布情况;(3)INR 达标时间(d)、治疗窗内的时间比例(time in therapeutic range, TTR)、华法林起始剂量(mg/d)和维持剂量(mg/d);(4)出血事件和 INR ≥ 4.0 事件发生情况。

1.3 统计学处理 应用统计软件 SPSS 26.0 对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料进行

独立样本 t 检验,用 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料行 χ^2 检验,并以 % 表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般临床资料 两组性别、年龄、BMI、吸烟史、饮酒史、高血压病史、原发病(心房颤动、深静脉血栓、肺栓塞)、合并症(卒中、肺炎、心衰、2 型糖尿病)比较,差异无统计学意义(表 1)。

表 1 两组合并抗凝指征且应用华法林的抗凝患者

一般资料	一般临床资料比较		$t/Z/\chi^2$	P
	研究组 ($n=30$)	对照组 ($n=60$)		
年龄/岁($\bar{x} \pm s$)	58.63±9.48	55.28±11.25	1.40	0.17
性别			0.20	0.65
男	18(60.00)	33(55.00)		
女	12(40.00)	27(45.00)		
BMI/(kg/m^2)($\bar{x} \pm s$)	24.54±2.23	23.71±3.68	1.13	0.26
吸烟史	21(70.00)	47(78.33)	0.75	0.39
饮酒史	17(56.67)	38(63.33)	0.37	0.54
高血压	19(63.33)	43(71.67)	0.65	0.42
原发病				
心房颤动	13(43.33)	21(35)	0.59	0.44
深静脉血栓	10(33.33)	24(40)	0.38	0.54
肺栓塞	7(23.33)	15(25)	0.03	0.86
合并症				
肺炎	12(40)	17(28.33)	1.25	0.26
心力衰竭	19(63.33)	29(48.33)	1.81	0.18
2 型糖尿病	14(46.67)	23(38.33)	0.57	0.45

注: BMI. 体质指数。

2.2 基因型分布 对研究组 30 例患者 CYP2C9、VKORC1 基因多态性检测,共检测出 5 种基因型(表 2)。

表 2 研究组 30 例患者基因检测结果

VKORC1	CYP2C9			合计
	* 1/ * 1(AA)	* 1/ * 3(AC)	* 3/ * 3(CC)	
AA	21	3	0	24
AG	4	1	0	5
GG	1	0	0	1
合计	26	4	0	30

2.3 华法林剂量及 INR 监测情况 两组 INR 监测情况和华法林用药剂量相比较,研究组 INR 达标时间短于对照组,且 TTR 高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表 3)。但在华法林起始剂量和稳定剂量方面,两组差异无统计学意义。

表 3 两组合并抗凝指征且应用华法林的抗凝患者

项目	华法林剂量及 INR 监测情况		t	P
	研究组 ($n=30$)	对照组 ($n=60$)		
INR 监测				
达标时间/d	9.56±1.68	11.12±2.03	3.63	<0.01
TTR/%	72.56±6.90	64.45±7.82	4.82	<0.01
华法林维持剂量/(mg/d)	3.17±0.81	2.92±0.64	1.60	0.11

注: INR. 国际标准化比值。

2.4 预后不良事件发生情况 研究组发生小出血事件低于对照组,发生 INR ≥ 4.0 事件低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表 4)。但在大出血事件发生率方面,两组差异无统计学意义。

表 4 两组合并抗凝指征且应用华法林的抗凝患者

项目	预后不良事件发生情况		χ^2	P
	研究组 ($n=30$)	对照组 ($n=60$)		
出血事件				
小出血	6(20.00)	27(45.00)	5.38	<0.05
大出血	1(3.33)	8(13.33)	1.36	0.24
INR ≥ 4.0 事件	5(16.67)	24(40.00)	4.99	<0.05

注: INR. 国际标准化比值。

3 讨 论

华法林是持续预防和治疗多种严重血栓栓塞性疾病和并发症最常用的口服抗凝剂,抗凝作用是通过抑制 VKORC1 干扰肝脏中维生素 K 依赖性凝血因子的合成来介导的。影响华法林疗效的主要因素包括 VKORC1 和 CYP2C9 多态性、药物间相互影响、饮食变化和疾病状态的变化,其中约 50% 的个体间差异是由 VKORC1 和 CYP2C9 基因中的多态性引起的^[12],可显著影响华法林剂量需求、INR 达标时间及过度抗凝和大出血的风险^[13]。有研究报道,基因多态性分析指导房颤患者及深静脉血栓患者华法林抗凝用药策略,可以获得更好的临床结局,并且安全性更高^[14]。但重症患者常合并多脏器功能衰竭,药物在吸收、分布、代谢及排泄方面会发生显著变化,基因检测是否能够对 ICU 合并抗凝指征(心房颤动、深静脉血栓、肺栓塞)的患者具有指导意义,目前仍不清楚。因此,本研究旨在探讨基因检测指导华法林个体化用药策略对 ICU 合并抗凝指征患者的疗效及安全性。

研究显示,我国人群中 CYP2C9 * 1/ * 1(AA)/VKORC1 AA 基因型总体占比 80%~90%,而其他杂

交突变的基因型总体占比 10%~20%^[15-17]。本研究结果中检测出的基因型与之前研究相似。进一步分析,两组 INR 监测和 TTR 情况结果提示,早期进行基因检测有助于促进华法林 INR 实现达标及维持 TTR 在较高水平,但两组患者华法林的初始剂量和维持剂量比较,差异无统计学意义,这与文献[18]研究结果符合。两组预后不良事件发生情况比较显示,尽管两组在大出血事件发生率中无统计学差异,但研究组大出血事件发生率低于对照组。研究中患者小出血事件和 INR ≥ 4.0 事件均显著低于对照组,说明基因多态性检测在一定程度上可以减少 ICU 患者合并抗凝指征华法林抗凝出血风险,提高华法林用药的安全性。

综上所述,在 ICU 合并抗凝指征(心房颤动、深静脉血栓、肺栓塞)的患者中进行 VKORC1 和 CYP2C9 基因多态性检测,指导华法林个体化抗凝治疗,有助于患者更快达到目标 INR,并保持较高的 TTR,稳定发挥抗凝作用,同时还可以减少患者小出血事件及 INR ≥ 4.0 事件的发生风险,提高华法林用药的安全性。但是使用基因型指导的给药未能消除不同患者群体中不同基因型的抗凝终点差异,且本研究为回顾性研究,样本量小,期待后续进一步扩大样本量、前瞻性多中心研究。

【参考文献】

- [1] 叶碧玲,林文基,徐 湛. ICU 危重症患者炎性因子在心房纤颤患者中的水平变化分析[J]. 心血管病防治知识, 2021,11(5):14-16.
- [2] Johnson J A, Gong L, Whirl-Carrillo M, *et al.* Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2011,90(4):625-629.
- [3] Wu S, Chen X, Jin D Y, *et al.* Warfarin and vitamin K epoxide reductase; a molecular accounting for observed inhibition[J]. *Blood*, 2018,132(6):647-657.
- [4] Flora D R, Rettie A E, Brundage R C, *et al.* CYP2C9 genotype-dependent warfarin pharmacokinetics: impact of CYP2C9 genotype on rand swarfarin and their oxidative metabolites[J]. *J Clin Pharmacol*, 2017,57(3):382-393.
- [5] Klein T E, Altman R B, Eriksson N, *et al.* Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data [J]. *N Engl J Med*, 2009,360(8):753-764.
- [6] 陈幽攸,任小群,杨 探,等. 基于 CYP2C9 与 VKORC1 基因多态性的心脏瓣膜置换术后华法林个体化给药剂量预测的 3 种模型算法比较[J]. 国际检验医学杂志, 2021,42(4):439-443.
- [7] 中南大学湘雅医院临床药理研究所,中南大学临床药理研究所,中南大学湘雅医学检验所. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)概要[J]. 实用器官移植电子杂志, 2015,3(5):257-267.
- [8] McClain M R, Palomaki G E, Piper M, *et al.* A rapid-ACCE review of CYP2C9 and VKORC1 alleles testing to inform warfarin dosing in adults at elevated risk for thrombotic events to avoid serious bleeding [J]. *Genet Med*, 2008,10(2):89-98.
- [9] 张 莉,张 磊,王 娜,等. 重症患者伴发深静脉血栓栓塞症使用低分子肝素抗凝治疗的抗-Xa 因子活性达标率及影响因素分析[J]. 中国医院药学杂志, 2023,43(10):1138-1142.
- [10] 孙艺红. 华法林抗凝治疗的中国专家共识[J]. 中华内科杂志, 2013, 52(1):76-82.
- [11] 李世英,柳景华. 欧美出血学术研究会(BARC)关于出血的统一定义[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2012, 20(4):231-234.
- [12] Gemmati D, Burini F, Talarico A, *et al.* The active metabolite of warfarin (3'-Hydroxywarfarin) and correlation with INR, warfarin and drug weekly dosage in patients under oral anticoagulant therapy: a pharmacogenetics study[J]. *PLoS One*, 2016,11(9):e0162084.
- [13] Tse G, Gong M, Li G, *et al.* Genotype-guided warfarin dosing vs. conventional dosing strategies: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2018,84(9):1868-1882.
- [14] Arwood M J, Deng J, Drozda K, *et al.* Anticoagulation endpoints with clinical implementation of warfarin pharmacogenetic dosing in a real-world setting: a proposal for a new pharmacogenetic dosing approach [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2017,101(5):675-683
- [15] 刘芑菲,卓钟灵,苏 明,等. 中国汉族人群 CYP2C9 及 VKORC1 基因多态性及其对华法林用药剂量的相关性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2020(1):71-72.
- [16] 丁维剑,汪亚南,苗仁华. CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性对华法林个体化用药的指导价值[J]. 实用心脑血管病杂志, 2021,29(12):121-124.
- [17] 齐光照,薄 惠,王维杰. 中原地区汉族和回族中国人 CYP2C9~*3、VKORC1-1639G>A 和 CYP4F2~*3 的遗传多态性[J]. 山西医科大学学报, 2017,48(12):1265-1272.
- [18] 宫小薇,袁雅冬,贡 莹,等. CYP2C9、VKORC1 基因多态性在 PTE 患者华法林抗凝治疗中的应用分析[J]. 医学综述, 2021,27(14):2883-2887.

(2023-10-31 收稿 2024-07-15 修回)
(责任编辑 刘冬妍)